Aus dem Institut für Neuropathologie im
Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. J. Cervós-Navarro

ULTRASTRUKTURELLE ABGRENZUNG EINER NEUEN ART PROGRESSIV REGRESSIVER VERÄNDERUNGEN VON PERITUMORALEN ASTROCYTEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ruthard v. Frankenberg
aus Langenfeld-Richrath

Aus dem Institut für Neuropathologie im
Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr.med. J. Cervós-Navarro

ULTRASTRUKTURELLE ABGRENZUNG EINER NEUEN ART PROGRESSIV REGRESSIVER VERÄNDERUNGEN VON PERITUMORALEN ASTROCYTEN

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von :

RUTHARD v.FRANKENBERG

Langenfeld-Richrath

Referent: Professor Dr.med. J. Cervós-Navarro

Korreferent: Professor Dr.med. B. Bingas

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 15. September 1972

Meinen Eltern in Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG

2 KRANKENGESCHICHTE

3 HISTOLOGISCHE DIAGNOSEN

4 MATERIAL UND METHODEN

5 ZUSAMMENFASSENDE ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE BESCHREIBUNG DES HAEMANGIOBLASTOMS

6 EIGENE BEFUNDE

6.1 ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG

6.2 LICHTMIKROSKOPIE DER SEMIDÜNNSCHNITTE

7 BESPRECHUNG

7.1 ABGRENZUNG CYTOPLASMATISCHER GEBILDE

7.2 CYTOGENETISCHE ABGRENZUNG

8 ABBILDUNGEN

9 ZUSAMMENFASSUNG

10 LITERATURNACHWEIS

1 EINLEITUNG

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung von vier Haemangioblastomen des Kleinhirns, einem Haemangioblastom des Rückenmarkes, einem Angiom des Plexus des Seitenventrikels und drei angioblastischen Meningiomen (CERVOS-NAVARRO, 1971) fielen in einem der Haemangioblastome des Kleinhirns eigenartige Zellen auf. Sie waren in der umgebenden Fasergliose und im Grenzbereich zwischen dieser und dem Tumor gelegen. Es handelte sich um kernlose Anschnitte, die in dichter Packung verschieden große, rundliche, mäßig dichte, strukturlose Zelleinschlüsse ohne umgebende Membran enthielten. Diese intracytoplasmatischen Körper werden im Folgenden als "homogene glattrandige Einschlüsse" (HGE) bezeichnet.
In den anderen Haemangioblastomen des Kleinhirns waren solche Zellanschnitte, auch bei gezielter Suche, nicht zu finden. In der Literatur werden entsprechende Befunde an Haemangioblastomen des Kleinhirns nicht beschrieben. (Literatur bei CERVOS-NAVARRO, 1971)

In der vorliegenden Arbeit wird die Morphologie des Tumors, die in der oben zitierten Arbeit bereits veröffentlicht worden ist (Fall 3), nur zusammenfassend rekapituliert. Gegenstand der eigenen Untersuchung ist vielmehr die eingehende Beschreibung und die Einordnung der die HGE enthaltenden speziellen Zellen und ihrer Umgebung. Dazu wurde zunächst eine Reihe von Ultradünnschnitten aus verschiedenen Gebieten des Operationsmaterials dieses Tumors elektronenmikroskopisch untersucht. So kam eine größere Zahl der im Gewebe immer nur in vereinzelten Exemplaren vorliegenden Zellanschnitte mit ihrer unmittelbaren Umgebung, das heißt vor allem der autochthonen Glia und den bei diesem Haemangioblastom reichlich vorhandenen Mastzellen zur Darstellung.

Daran schließt sich die nachträglich vorgenommene lichtmikroskopische Untersuchung des Tumors an Semidünnschnitten des für die Elektronenmikroskopie eingebetteten Materials an. Auch hier ließen sich die Zellen bei verschiedenen Färbungen und histochemischen Reaktionen in Tumornähe nachweisen. Außerdem ergaben sich so einige Hinweise auf die chemische Zusammensetzung der HGE.
In der Diskussion werden zunächst anhand der Literatur verschiedene bekannte intracytoplasmatische Körper mit den vorliegenden elektronen- und lichtmikroskopischen Befunden verglichen und weitgehend ausgeschlossen. Danach werden unter anderem die möglichen Beziehungen zu den Mastzellen und zur autochthonen Glia besprochen. Es zeigt sich, daß aus der Literatur keine Fälle bekannt sind, die mit unseren Befunden gleichgesetzt werden können, obwohl in den genannten Zellarten immer wieder ähnliche intracytoplasmatische Einschlüsse beschrieben wurden.

2 KRANKENGESCHICHTE

Die 1936 geborene Patientin klagte seit 1966 über stärkere Kopfschmerzen und seit Mai 1968 über Schwindel, vor allem bei Lagewechsel. Seit 1968 erfolgten mehrere Suicidversuche.

Bei der Aufnahmeuntersuchung im April 1969 zeigten sich eine beidseitige Stauungspapille und leichte rechtsbetonte Koordinationsstörungen. Die arteriographische Darstellung des vertebro-basilären Systems ergab den Verdacht auf einen raumfordernden Prozeß in der hinteren Schädelgrube. Das Ventriculogramm ließ einen Aquaeduktverschluß erkennen und bestätigte den raumfordernden Prozeß.
Aufgrund dieser Befunde wurde die Patientin im April 1969 operiert. Der Operationssitus zeigte eine deutlich vorgewölbte rechte Kleinhirnhemisphäre und eine starke Verbreiterung des rechten Wurmanteils und der rechten Tonsille. Im unteren Quadranten der rechten Hemisphäre traf man auf eine kleinapfelgroße Cyste, in deren lateraler, zum Foramen occipitale hinzeigenden Wand sich ein aus großen Arterien gespeistes Angioreticulom darstellte, das reseziert wurde. Nach komplikationslosem postoperativen Verlauf wurde die Patientin mit deutlich gebesserten neurologischen Befunden vier Wochen nach der Operation aus der stationären Behandlung entlassen.

In den letzten Wochen vor der erneuten Aufnahme Anfang Mai 1970 klagte die Patientin wiederum über zuletzt sehr starke Kopfschmerzen sowie Erbrechen. Die Aufnahmeuntersuchung zeigte am Augenhintergrund verwaschene Strukturen. Es bestand Anisokorie; die rechte Pupille war weiter als die linke. Die grobe Kraft in den rechten Extremitäten war geringgradig herabgesetzt. Die Eigenreflexe waren rechts sehr schwach auslösbar. Im Zeigeversuch erfolgte beidseits deutliches Vorbeizeigen; die Diadochokinese war rechts wie links unsicher, der Gang ataktisch. Der Liquor cerebro-

spinalis war mit 120 mg% Gesamteiweiß pathologisch. Im Kontrollarteriogramm war keine Darstellung der Gefäße möglich.
Bei der Revisionsoperation der hinteren Schädelgrube stieß man auf eine mit 40 - 50 cm^3 einer hellgelben Flüssigkeit gefüllte Cyste, in deren lateraler Wand, das heißt in der rechten Hemisphäre, sich ein etwa kirschgroßer, stark vascularisierter Angioreticulomknoten fand, der extirpiert wurde. Postoperativ erholte sich die Patientin gut.

3 HISTOLOGISCHE DIAGNOSEN

Operationsmaterial vom April 1969:
In den Paraffinschnitten, aus denen die folgende Diagnose gestellt wurde, ist kein Tumorgewebe getroffen.
"Inmitten von Partikeln relativ unveränderten Kleinhirngewebes läßt sich eine ausgedehnte Gefäßmißbildung nach Art eines arterio-venösen Angioms mit reichlich frischen und älteren Blutungen sowie umschriebene Thromben erkennen. Von blastomatösen Gefäßproliferationen im Sinne eines Angioreticuloms (LINDAU-Tumor) überzeugt man sich nicht."

Operationsmaterial vom Mai 1970:
"Es handelte sich bei dem Geschwulstrecidiv um ein diesmal mehr flächenhaft innerhalb der weichen Häute sich ausbreitendes Angioreticulom (LINDAU-Tumor) mit schwartiger Vernarbung innerhalb des alten Operationsgebietes."

4 MATERIAL UND METHODEN

Während der Revisionsoperation wurden einige etwa 1 mm^3 große Gewebsstücke aus verschiedenen Gebieten des Tumors entnommen und zur Fixierung für vier Stunden in phosphatgepuffertes (pH 7,5), isotones, 5 %iges Glutaraldehyd verbracht. Nach der Waschung in isotoner Saccharoselösung, der Nachfixierung in gepuffertem, isotonen, 1 %igen Osmiumtetroxyd und der Entwässerung in einer aufsteigenden Acetonreihe erfolgte die Einbettung in "Mikropal".
Die mit Bleicitrat nachkontrastierten Ultradünnschnitte gelangten zur elektronenmikroskopischen Untersuchung. Semidünnschnitte mit einer Dicke von etwa 0,5 µ - 1,0 µ wurden mit dem Ultrotom unmittelbar vor und hinter den Ultradünnschnitten geschnitten.
Für die Färbung nach GIEMSA und die PAS-Reaktion wurde das "Mikropal" belassen. Die Färbung mit Alziangrün als Tetrachromfärbung mit Safranin, Erythrosin und Haemalaun (IGLESIAS) wurde nach vorheriger Entfernung des "Mikropal" (MATAKAS, 1968) durchgeführt. Weitere Färbungen mit AZAN (MATAKAS, 1968), Methyl-Grün-Pyronin (PEARSE, 1968) sowie Mucicarmin (ROMEIS, 1968) wurden an Semidünnschnitten, aus denen der Kunststoff ebenfalls herausgelöst worden war, versucht.

5 ZUSAMMENFASSENDE ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE BESCHREIBUNG DES HAEMANGIOBLASTOMS (CERVOS-NAVARRO, 1971)

5.1 GEFÄSSE

Der Tumor besteht überwiegend aus mittelgroßen oder auch kavernösen Gefäßen. Unabhängig vom Durchmesser sind die meisten Gefäße nur aus einer Endothellage gebildet, es fallen aber exzessive Unterschiede in der Endothelbreite auf. Bei den größeren Gefäßen trifft man vier bis sechs Lagen von Endothelzellen, bei kleineren Capillaren dagegen eine bis drei. Die Plasmamembran der Endothelzellen wird nach außen durch eine Basalmembran gegen das umgebende Gewebe abgegrenzt. Das Cytoplasma der Endothelzellen ist reich an vorwiegend in Kernnähe lokalisierten Zellorganellen, bei einigen Gefäßen finden sich besonders viele Mitochondrien. Zwischen den Organellen und an einigen Stellen sie zurückdrängend findet man eine Durchsetzung des Cytoplasma mit Cytofilamenten von etwa 8 nm Durchmesser, die alle mehr oder weniger parallel verlaufen. Perivasculär liegen Cytoplasmaausschnitte mit gleichem strukturellen Bau wie das Cytoplasma der Endothelzellen, die von einer eigenen Basalmembran umgeben und daher von dem Endothel durch zwei Basalmembranen und einen dazwischenliegenden extrazellulären Raum getrennt sind.

5.2 ZWISCHENZELLEN

Gemeinsame Merkmale aller Zwischenzellen sind pinocytotische Bläschen, Glycogen, Diplosomen und Basalkörper. Gewisse Strukturunterschiede veranlaßten eine Einteilung in Gruppen:

1. Zellen mit polyedrisch-elliptischem bis länglichen Kern-

profil. Die Kernmembran ist gefältelt mit häufigen Einstülpungen. Cytoplasma und Mitochondrien sind selten. Vereinzelte bzw. in kleineren Zügen verlaufende Cytofilamente von 7-10 nm Durchmesser sind anzutreffen. Die Plasmamembran wird in der Regel von einer Basalmembran umgeben.
2. Zellelemente, die ein ausgedehnteres Cytoplasma besitzen. Die Mitochondrien sind zahlreicher. Vereinzelt finden sich Cytosomen, die von einer Membran umgeben sind. Ihr Inhalt ist homogen und von mäßiger Elektronendichte. Ferner sind zahlreiche Cytofilamente nachweisbar; selten ist eine deutliche Polarisierung erkennbar. Sie ähneln der Anordnung der Filamente, die bei reaktiven Astrocyten häufig in der Umgebung der Grenzzone gegenüber dem autochthonen Nervengewebe vorhanden sind. Eine Umgrenzung durch eine Basalmembran ist seltener als bei 1. Vereinzelt sind Fettvacuolen nachweisbar.
3. Zellen mit Zunahme des Cytoplasma aufgrund einer starken Entwicklung des endoplasmatischen Reticulum, das bis zur zisternenartigen Durchsetzung des Cytoplasma führen kann. Die Anordnung ist jedoch unregelmäßiger als in Plasmazellen. Häufig werden die Elemente durch eine Basalmembran umgrenzt. Vereinzelte Fettvacuolen sind nachweisbar.
4. Der Hauptanteil der cytoplasmatischen Anschnittfläche ist von Fettvacuolen besetzt, die sich meist elektronenmikroskopisch leer darstellen; nur an einigen Stellen ist eine leicht grauwolkige Verfärbung der übriggebliebenen Lipide erkennbar. Im dazwischen liegenden Cytoplasma findet sich die übliche Besetzung mit vereinzeltem endoplasmatischen Reticulum. Mitochondrien sind selten.

5.3 EXTRAZELLULÄRRAUM

Die extrazellulären Räume breiten sich unregelmäßig um die Zwischenzellen und Gefäße aus. Um die Gefäße sind sie immer

vorhanden und beinhalten einzelne kollagene Fasern. Selten liegen zwischen den kollagenen Fasern Filamente von nur 12 nm Durchmesser, die keine Periodizität aufweisen. Vereinzelt finden sich spindelförmige Filamentbündel, die eine Periodizität von hellen und dunklen Querbändern zeigen. Der Abstand zwischen zwei dunklen Bändern beträgt 140 nm. Dazwischen befinden sich zwei helle Streifen von je ca. 50 nm und ein Mittelband.
Kollagene Fasern kommen in den verschiedenen Blöcken unterschiedlich häufig vor; dabei sind die extrazellulären Räume dicht mit fein-osmiophilem Material ausgefüllt, das eine unregelmäßige Strukturierung nach Art des geronnenen Eiweißes erkennen läßt. Bei stärkerer Entwicklung der kollagenen Fasern werden die Zellen auseinander gedrängt und erscheinen im Schnitt häufig als einzelne Profile.
In den angrenzenden Gebieten des Haemangioblastoms bilden die reaktiven fibrillären Astrocyten einen dichten Gliafilz. Die Abgrenzung des Haemangioblastoms gegenüber dem umgebenden Nervengewebe stellt sich elektronenmikroskopisch in zwei verschiedenen Formen dar. Einmal wird das Nervengewebe kontinuierlich durch eine Basalmembran von dem Tumor getrennt. Im andern Fall, bei einem Zusammenbruch der Grenze zwischen Tumor und Hirngewebe, findet sich eine Vermischung der Gliaelemente, vor allem ihrer mit Filamenten dicht gepackten Fortsätze mit den Zwischenzellen.

6 EIGENE BEFUNDE

6.1 ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG

6.1.1 Mastzellen

Diese Zellen haben im Schnitt ein rundliches Profil. Bei einigen wenigen Exemplaren erscheint der Cytoplasmaleib in länglicher, plumper Gestalt, wobei der Kern exzentrisch gelagert ist.
Die Zellen zeichnen sich besonders durch ihre allseitigen pseudopodienartigen Ausstülpungen der Cytoplasmamembran und durch ihre intraplasmatischen Granulationen aus.
Es lassen sich zwei Arten von Mastzellgranula unterscheiden. Die eine Art ist besonders elektronendicht. Die Profile der Granula sind unregelmäßig bis rundlich mit meist welliger Grenze zum Cytoplasma. Sie haben einen erheblich geringeren Durchmesser als die der anderen Gruppe. Die Granulummatrix ist sehr vielgestaltig. Sie zeigt zum Beispiel konzentrische, wirbelförmige und parallel angeordnete Lamellensysteme, die an der Oberfläche oftmals die welligen Vorbuchtungen durchziehen, ferner granuläres Material mit sehr unterschiedlich grober Körnelung und Packung oder auch kleinfleckige, fast homogene Bezirke bzw. gänzlich homogene, außerordentlich dichte Granula. Besonders in letzteren erkennt man bei höherer Auflösung regelmäßig parallele Anordnungen feiner osmiophiler Bänder, die meist bogenförmige Figuren beschreiben, sog. "Fingerprints".
Die andere, größere, weniger elektronendichte und weniger vielgestaltige Granulaart besitzt mehr lappige Profile, die in unmittelbarer Nachbarschaft zu den Granula der ersten Gruppe regelmäßig seichte Einbuchtungen aufweisen. Ihre Matrix ist wolkig und feingranuliert bis homogen. Allerdings finden sich bei höherer Auflösung regelmäßig "Fingerprints",

die sich jedoch recht unscharf darstellen und nur kleine Bereiche eines Granulum durchsetzen.
Beide Granulaarten werden von einfachen Membranen umgrenzt. Diese sind besonders gut zu erkennen, wenn sie von der Granulummatrix ringsum oder teilweise durch einen hellen Saum getrennt erscheinen. In den verschiedenen Mastzellanschnitten kommen allerdings immer einzelne Exemplare vor, bei denen diese Membran wegen der bis an die Oberfläche reichenden Lamellensysteme oder der gleichen Dichte von Membran und Granulummatrix nicht leicht zu erkennen ist. Es fanden sich jedoch keine Mastzellen, die nur solche Granula aufweisen.
In den meisten Anschnitten war der große Kern getroffen. In Kernnähe fallen besonders die stark ausgebildeten Golgizonen auf. Das endoplasmatische Reticulum weist einen wechselnd starken Ribosomenbesatz auf. Seine Lumina sind eng. Mitochondrien finden sich in Kernnähe zahlreich; zwischen den Granula erscheinen sie weniger häufig.
Die Mastzellen werden nie durch eine Basalmembran umgrenzt. Auffallend ist, daß sie in den Grenzgebieten sogar von Neuropil umgeben vorliegen. Allerdings läßt sich dabei kein enger Kontakt mit konstantem Interzellularfugenabstand zwischen Mastzelle und faserreichen Astrocytenfortsätzen feststellen. Vielmehr besteht ein wechselnd breiter Interzellulärraum, in den die Mastzellpseudopodien hineinragen.

6.1.2 Astroglia

Das Neuropil in der Umgebung des Tumors bildet einen sogenannten Gliafilz, das heißt es besteht fast ausschließlich aus faserreichen Astrocytenfortsätzen, die in großer Zahl ohne jede Ordnung dicht beisammen liegen. Zellkerne werden im Vergleich zu kernlosen Anschnitten äußerst selten angetroffen.

Die Profile der Fortsätze sind völlig unregelmäßig gestaltet, jedoch überwiegen längliche Formen. Neben den dichten intracytoplasmatischen Faserbündeln finden sich nur wenig Mitochondrien und Anschnitte des endoplasmatischen Reticulum. In wenigen Astrogliafortsätzen finden sich mehr Organellen, besonders Mitochondrien, während die Cytofilamente hier spärlicher ausgebildet sind. Häufig stellt sich im Cytoplasma reichlich Glycogen dar; es kann aber auch in geringer Menge vorkommen oder gänzlich fehlen.
Bei dem Zusammenbruch der Grenze zwischen Tumor und Hirngewebe kann man eine Vermischung der Gliaelemente, vor allem ihrer mit Filamenten dicht gepackten Fortsätze, mit den Zwischenzellen finden. In diesen Bereichen ist das Gefüge der Gliose durch große Extrazellulärräume gelockert. Hierbei liegen die Fortsätze nicht vereinzelt vor, sondern in Gruppen mit erhaltenem engen Kontakt untereinander.
In einigen besonders großen und plumpen faserreichen Fortsätzen liegen stark osmiophile amorphe Massen mit unregelmäßigem Rand, denen eine umgebende Membran fehlt (ROSENTHALsche "Fasern"). Die Gliafilamente in ihrer unmittelbaren Umgebung laufen auf diese Gebilde zu und verlieren sich in ihrem Rand.
Mitunter stellen sich in Astrogliafortsätzen membranumgebene Cytosomen dar. Ihr Inhalt ist sehr bunt und zeigt unter anderem homogene Zonen, amorphes Material sowie fädige und granuläre Strukturen.

6.1.3 HGE-haltige Zellanschnitte

Elektronenmikroskopisch zeigen sich Anschnitte HGE-haltiger Zellen mit sehr unterschiedlichen längsten Durchmessern. Vereinzelt beträgt der längste Durchmesser mehr als das Dreifache des kürzesten und darüber (Abb. 2). Die kürzesten Durchmesser reichen etwa von 0,9 μ bis 10 μ, mit einem Mit-

telwert von etwa 3,2 µ (ermittelt aus 71 ausgemessenen Zellen).
Das Profil ist besonders im dichtgefügten Neuropil völlig unregelmäßig (Abb. 1), an dessen Rand, in der Nähe des freien Extrazellulärraumes meist glattrandig rund bis oval (Abb. 3.1). Oft finden sich längliche groblappige Vorwölbungen, so daß die Profile hantel- oder kleeblattförmig erscheinen.
Es fällt besonders auf, daß bei ungefähr 170 Zellanschnitten nur zweimal ein Kern getroffen wurde. Eine der Zellen liegt unmittelbar an einem Kapillarlumen. Im organellenreichen Cytoplasma der anderen Zelle, die in der Mischzone zwischen Tumorgewebe und Gliose liegt, finden sich mehrere Fettvacuolen (Abb. 4). Die Kerne beider Zellen liegen am Zellrand und zeigen ein unregelmäßiges, welliges Profil. Die Kernmembranen sind deutlich erkennbar. Das Chromatingerüst erscheint gleichmäßig locker.
Die HGE haben Abmessungen von 0,1 µ bis 1,5 µ, mit einem Mittelwert von 0,4 µ im längsten Durchmesser (ermittelt aus 144 ausgemessenen HGE). Ihr Profil ist glattrandig rundlich bis oval oder mitunter auch groblappig geschwungen. Längliche Formen kommen nicht vor. Hier und da platten sich aneinanderliegende Einschlußränder gegenseitig ab. Meist füllen die Einschlüsse das Cytoplasma in dichter Packung aus, seltener liegen sie in geringerer Zahl verstreut im Cytoplasma.
Die Begrenzung der HGE zeigt am häufigsten einen Randkondensationssaum mit scharfem oder verdämmerndem Übergang zum Cytoplasma. Weniger häufig zeigen sich gar keine Grenzstrukturen, wobei die Begrenzung ein scharfrandiges oder kontinuierlich verdämmerndes Bild bieten kann. Etwa gleich oft trifft man von einem schmalen, membranartigen Saum begrenzte HGE an. Dieser hat eine ähnliche feinstgranuläre Struktur wie die von ihm umhüllte Einschlußmatrix, wenngleich in höherer Dichte. Er ist nur dann leicht zu erkennen, wenn er

vom Einschlußkern durch einen schmalen, optisch leeren Raum getrennt erscheint oder elektronendichter als die Einschlußmatrix ist. Zwischen allen Arten von Begrenzungen gibt es fließende Übergänge, so daß die Einordnung eines HGE nicht immer möglich ist.
Die Einschlußanschnitte zeigen bei der weit überwiegenden Mehrzahl der HGE eine mäßige Dichte mit Schwankungen von Zelle zu Zelle, aber ohne wesentliche Unterschiede innerhalb derselben Zelle. Die Struktur der Anschnitte ist homogen, seltener von feinster flauer Körnelung, in der Mehrzahl jedoch schattig-wolkig, wobei mitunter diskrete rundfleckige Verdichtungen erkennbar sind.
Sehr selten zeigen die Einschlußanschnitte eine andere Struktur (vesiculärer Typ der HGE) (Abb. 3.2). In der typischen homogenen Matrix liegen einzelne oder mehrere große Vacuolen derart beisammen, daß die zwischen ihnen verbleibende Matrix polyzyklisch konkave Figuren bildet. Die Vacuolen sind leer, beherbergen wenig sehr dichtes inhomogenes Material oder haben einen wechselnd fädigen bis granulären Inhalt von sehr unterschiedlicher Dichte mit gelegentlichen großen, runden, stärker osmiophilen Verdichtungen. Liegen die Vacuolen am Rande eines Einschlusses, wird die Begrenzung durch verschieden breite Säume eines unterschiedlich dichten Materials gebildet.
Ein weiterer HGE-Typ (Zwischentyp) steht sowohl in seinem Aussehen wie in seiner Häufigkeit zwischen den normalen HGE und ihrer vesiculären Variante (Abb. 3.2). In den Anschnitten, die im übrigen denen der homogen-wolkigen Einschlüsse entsprechen, zeigen sich halbmond- bis kreisförmige helle Säume, die einzeln oder zu mehreren in der Mitte und/oder am Rande eines Einschlusses erkennbar sind. Ihre Größe kann der der kleineren HGE entsprechen. Sie können aber auch beinahe die gesamte Fläche des Einschlusses, in dem sie sich finden, einnehmen, so daß nur halbmondförmige bzw. bei mehreren Säumen polyzyklisch konkave Bezirke ausgespart bleiben. Die von den hellen Säumen umgebenen Zonen haben Struktur

und Dichte der ausgesparten HGE-Bezirke, wenn die Säume schmal sind. Sind diese jedoch breiter, ist ihr Inhalt deutlich dichter und inhomogener.
Die Übergänge zwischen den einzelnen HGE-Typen sind fließend, so daß die Einordnung nicht in jedem Fall sicher erfolgt. Alle Typen können innerhalb einer Zelle vorkommen (Abb. 3.2), meist liegt jedoch in einer Zelle bevorzugt ein Typ vor.

Der zwischen den HGE verbleibende cytoplasmatische Raum wird zu einem Teil von endoplasmatischem Reticulum, das aus unregelmäßigen, weitlumigen Schläuchen bzw. Vesicula ohne Ribosomenbesatz besteht, eingenommen. Mitochondrien treten in sehr geringer Zahl auf; je strukturärmer das Cytoplasma, um so seltener finden sie sich. Ihre kleinsten Durchmesser entsprechen denen der kleineren HGE. Die Profile sind im Anschnitt rundlich bis länglich. In den längeren Zellanschnitten stellen sich stets auch länglichere Mitochondrienanschnitte dar (Abb. 2).
Glycogen findet sich in vielen Anschnitten massenhaft, in anderen in geringerer Menge oder auch gar nicht. Zellen mit sehr unterschiedlichem Glycogengehalt können unmittelbar benachbart liegen. Läßt die HGE-Packung genügend Raum, liegen die Partikel ungeordnet verstreut; sind die HGE aber dicht gepackt, so füllt das Glycogen die verbleibenden Zwischenräume, abgesehen vom endoplasmatischen Reticulum, in dichter Lagerung aus.
Cytofilamente finden sich in sehr unterschiedlicher Menge im Cytoplasma. In den Zellanschnitten, bei denen zwischen den dicht gepackten HGE kaum Raum bleibt, sind sie nur schwer auszumachen. Dies trifft besonders für die großen Zellanschnitte zu. Die schmaleren Anschnitte hingegen zeigen immer dann Cytofilamente, wenn zwischen den HGE bzw. am Rand der Zelle Platz bleibt. Sie ordnen sich dann zu Bündeln, die das Cytoplasma durchziehen. Diese Faserzüge gleichen denen der

faserreichen Astrogliafortsätze. In der Nähe von HGE, bzw. bei den organellenreicheren Zellen in der Nähe von Mitochondrien und Schläuchen des endoplasmatischen Reticulum verliert sich die parallele Ausrichtung zugunsten eines lockeren ungeordneten Gefüges. Zwischen den HGE läßt dieses seinen Aufbau aus Filamenten lediglich an einzelnen längsgetroffenen, unausgerichteten Cytofilamenten deutlich erkennen (Abb. 3.2).
Die einschlußhaltigen Zellanschnitte werden von einer Cytoplasmamembran umgeben. Bei Anschnitten mit einem besonders großen Anteil von HGE des vesiculären Typs findet man häufiger eine in ihrer Kontinuität gestörte Cytoplasmamembran.

6.1.4 Umgebung der HGE-haltigen Zellanschnitte

Alle Zellanschnitte (170 von 170 ausgewerteten Exemplaren) sind ganz oder zum Teil von cytofilamentreichen astrocytären Fortsätzen umgeben oder haben zumindest an mehreren Stellen innigen Kontakt mit ihnen (Abb. 3.1). Es besteht ein konstanter Interzellularfugenabstand von etwa 9 nm.
Sehr häufig grenzt die Zelle auch unmittelbar an den Extrazellulärraum. Bei diesem handelt es sich meistens um einfach erweiterten Extrazellulärraum und nicht um den seeartig sich ausbreitenden extrazellulären Raum wie er bei der Cystenbildung im Tumor entsteht. Die meist großen HGE-haltigen Zellen in diesem Bereich zeigen häufiger eine Störung in der Kontinuität der cytoplasmatischen Membran als die von Neuropil eng umschlossenen Zellen. Eine Anzahl der typischen Einschlüsse findet sich auch frei im extrazellulären Raum.
An einigen Stellen läßt sich die Abgrenzung des Neuropils gegen den tumoralen Raum durch eine Basalmembran nachweisen. Hierbei befindet sich die einschlußhaltige Zelle immer auf der Seite des Neuropils. Nur an den Stellen, wo überhaupt keine trennende Basalmembran vorhanden ist, können die ein-

schlußhaltigen Zellanschnitte unmittelbar an Zellen der Tumorseite angrenzen.
Die Zellen, die einen engeren Verband mit den Gliafortsätzen bilden, sind in der Regel kleiner und zeigen homogenere und weniger dicht gepackte HGE und eine besser erhaltene Plasmamembran. Ausnahmen von dieser Regel sind durchaus vorhanden (Abb. 3.2).
An einer einzigen Stelle konnten wir eine direkte Anlehnung der Basalmembran an die Plasmamembran einer HGE-haltigen Zelle beobachten.

6.2 LICHTMIKROSKOPIE DER SEMIDÜNNSCHNITTE

Diese Untersuchungen wurden im Anschluß an die Elektronenmikroskopie der einschlußhaltigen Zellen durchgeführt, um durch die Färbungen und histochemischen Reaktionen die fraglichen Zellen weiter zu differenzieren und Hinweise auf die chemische Zusammensetzung ihrer cytoplasmatischen Granulationen zu erlangen.

6.2.1 GIEMSA-Färbung

In einigen Arealen läßt sich die Grenze zwischen angioblastischem Tumorgewebe und ortsständigem Kleinhirngewebe, das in unmittelbarer Nähe des Tumors eine Gliose zeigt, deutlich erkennen. In anderen Gebieten ist eine klare Grenze nicht vorhanden, das heißt zwischen den beiden Geweben liegt eine Mischzone, in der sich Elemente beider Seiten darstellen.
Auf der Tumorseite sowie in der Mischzone finden sich reichlich Schaumzellen mit leeren oder zart bläulich angefärbten Vacuolen und exzentrisch am Rande gelegenem Kern.
Im Tumorgebiet, in der Mischzone, aber auch im Neuropil bzw. im Gliafilz liegen verstreut einzelne Mastzellen. Ihre

Schnittprofile sind rund bis oval. Regelmäßig trifft man einen Zellkern mit deutlichem Nucleolus an. Die den Zellleib ausfüllenden cytoplasmatischen Granula sind in etwa einheitlich groß, rund und deutlich violett gefärbt, was sie gegenüber allen anderen Zellen hervorhebt.
Im Bereich der Kleinhirngliose bzw. in den nicht einzuordnenden Zonen finden sich in unterschiedlicher Zahl charakteristische Anschnitte anderer granulierter Zellen. Sie haben ein verschieden großes, meist länglich-rundes Profil und gelegentlich plumpe Ausbuchtungen. Keiner der Zellanschnitte läßt einen Kern erkennen. Charakteristisch sind die verschieden großen, runden Granula, die die Anschnitte dieser Elemente ganz ausfüllen. Diese Granulationen sind vollständig homogen und färben sich in wechselnder Intensität blau an.

6.2.2 PAS-Reaktion

Zum Teil konnte die Reaktion bei Semidünnschnitten durchgeführt werden, die sich unmittelbar an die entsprechenden nach GIEMSA gefärbten Schnitte anschließen. Dieselben Zellen, deren Granula bei der GIEMSA-Färbung eine blaue Farbe zeigen, reagieren schwach PAS-positiv, und zwar mit einer Intensität, welche derjenigen des umgebenden Gewebes, etwa der Gefäßwandzellen, entspricht. Hingegen verhalten sich die bei der GIEMSA-Färbung violetten Granula der Mastzellen sehr intensiv PAS-positiv.

6.2.3 Alzian-Grün in einer Tetrachromfärbung mit Safranin, Erythrosin und Haemalaun

In derselben Lokalisation wie bei der GIEMSA-Färbung und der PAS-Reaktion stellen sich auch hier kernlose, granulierte

Zellen dar. Diese Zellen sind außer den gelb-grünen Erythrocyten die einzigen, die mit Alzian-Grün tingiert sind. Die Färbung zeigt ein schwaches, schmutziges Grün. Die Mastzellgranula färben sich demgegenüber stark violett bis rotbräunlich an.

Bei den weiteren Färbungen von Semidünnschnitten mit AZAN, Methyl-Grün-Pyronin sowie Mucicarmin blieb jegliche Anfärbung der Präparate aus.

7 BESPRECHUNG

Bei den meist länglichen kernlosen Zellanschnitten dürfte es sich um Fortsatzanschnitte handeln, was durch eine Reihe von Längsschnitten bestätigt wird. Hantel- und kleeblattförmige Profile können dabei Verzweigungsstellen darstellen.
Diesen Fortsätzen zuzuordnende Perikarya sind nicht differenzierbar. Die beiden Exemplare HGE-haltiger Zellen mit Kernanschnitten können aus weiter unten zu besprechenden Gründen nicht als solche angesprochen werden.
Das spärliche, besatzlose endoplasmatische Reticulum, die wenigen Mitochondrien und die sonstige Strukturarmut des Cytoplasmas sprechen für einen Zustand der Degeneration. Dieses Bild ist bei der größten Zahl der Zellen sehr stark ausgeprägt, während man bei anderen ein vitaleres Cytoplasma mit mehr Mitochondrien und Anschnitten des endoplasmatischen Reticulum beobachten kann. Das Vorkommen von Glycogen liefert allerdings keinen Maßstab für die Vitalität der Zelle, weil es in organellenarmen und organellenreicheren Zellen gleichermaßen dicht gepackt vorkommen oder auch fehlen kann.

Die durchschnittlich 0,5 µ großen, meist rundlichen HGE werden zu einem geringeren Teil durch keine eigenen Strukturen gegen das Cytoplasma abgegrenzt, wie es beim Großteil der HGE durch einen Saum aus stärker osmiumreduzierendem Material geschieht. Ein solcher Randsaum dürfte auch bei den Zelleinschlüssen mit der beschriebenen membranartigen Begrenzung vorliegen. Zwar läßt sich bei einigen Exemplaren eine Membran im Sinne cytoplasmatischer Grenzmembranen, der Membranen des endoplasmatischen Reticulum etc. nicht mit Sicherheit ausschließen, jedoch scheint es sich eher um außergewöhnlich feine und gleichmäßige, zum Teil auch von der eigentlichen Einschlußmatrix optisch abgesetzte, osmiumreduzierende Randverdichtungen (FAWCETT, 1966) zu handeln. Dafür sprechen zum einen die in großer Zahl vorliegenden HGE,

die Grenzen besitzen, die Übergangsformen zwischen den membranähnlichen Bildungen und den typischen breiten Randverdichtungen darstellen können, zum andern die, abgesehen von der größeren Dichte, der Einschlußmatrix entsprechende feinstgranuläre Struktur der fraglichen membranähnlichen Bildungen. Desgleichen stellen die unterschiedlich dichten und breiten Begrenzungssäume der vesiculären HGE keine Membranen im oben genannten Sinne dar.
Die Frage, ob die beiden Varianten der HGE als Präparationsartefakte angesprochen werden können und ob hierbei in den HGE Zonen mit einer von der übrigen Einschlußmatrix abweichenden chemischen Zusammensetzung vorliegen, bleibt offen.

7.1 ABGRENZUNG CYTOPLASMATISCHER GEBILDE

7.1.1 Mitochondrien

In Übereinstimmung mit der Literatur (FARQUHAR and HARTMANN, 1957; MUGNAINI and WALBERG, 1964) zeigen sich in verschiedenen längsgetroffenen Fortsätzen unseres Materials auch langgestreckte Mitochondrienanschnitte. Das gilt auch für Mitochondrien der einschlußhaltigen Fortsätze (Abb. 2). Die diskutierten cytoplasmatischen Einschlüsse sind hingegen in allen Fällen im Anschnittprofil rundlich-oval bis grob gelappt. Es ließe sich vermuten, daß die HGE aus länglichen Mitochondrien unter Abrundung ihrer Gestalt und Verlust ihrer typischen umgebenden Doppelmembran und der Cristae mitochondriales entstanden sind. Für eine solche Annahme spricht der Befund, daß die kleinsten Durchmesser der Mitochondrien etwa dem Durchmesser der kleineren Einschlüsse entsprechen, während die Durchmesser der großen Einschlüsse ein Vielfaches davon erreichen. Es müßten aber auch Übergangsstufen zwischen den normalen Mitochondrien und den HGE vorhanden sein, wie sie sonst für regressive Mitochondrienveränderungen beschrie-

ben werden (NOVIKOFF and ESSNER, 1962; SCHLOTE, 1964a). Die typischen Charakteristika der Mitochondrien, Doppelmembran und Cristae, fehlen bei den HGE und ihren Varianten völlig. Präparationsartefakte reichen als Erklärung dafür nicht hin, weil wohlerhaltene Mitochondrien und HGE in denselben Zellanschnitten vorliegen. Auch läßt sich das vollständige Fehlen von Cristae nicht durch die Annahme ungünstig gelegener Schnittebenen (FAWCETT, 1966) plausibel machen. Eine typische Mitochondrienschwellung (MACKEY et al, 1964; SUZUKI and RAPIN, 1969) kann ebenfalls kaum vorliegen, weil die HGE weder eine hellere Matrix als die Mitochondrien, noch ungeordnete Cristae- und Doppelmembranreste aufweisen.

7.1.2 Lysosomen und verwandte Gebilde

Zu den Charakteristika der Lysosomen (NOVIKOFF, 1961; DE DUVE, 1963, 1964) gehören ihre Begrenzung durch eine Membran, der Gehalt an sauren Hydrolasen, die je nach Art des umschlossenen Materials sehr bunten Inhaltsstrukturen (BLINZINGER, 1966; VAUGHN and PEASE, 1970) und die wechselnde Größe mit durchschnittlich 0,5 μ (BAUDHUIN et al., 1965).

Letzteres stimmt mit unseren HGE überein. Die Reaktionen auf Hydrolasen konnten bei unserem Material nicht mehr durchgeführt werden. Obwohl der Interzellulärraum des Angioblastoms eine feingranuläre, schwach osmiophile Struktur nach Art geronnenen Eiweißes zeigt (CERVOS-NAVARRO, 1971), kann eine Phagocytose dieser Massen als Erklärung für das Vorliegen der HGE nicht angenommen werden, weil in diesem Falle die HGE von Membranen umgeben sein müßten. Außerdem erschiene, wenn auch Lysosomen bzw. Phagosomen mit homogenem Inhalt bekannt sind (ESCOLA und HAGER, 1962; BLINZINGER und HAGER, 1964; SAMORAJSKI et al., 1965), eine derart gleichmäßige und vollständige Füllung mit homogenem Material für Lysosomen in hohem Maße ungewöhnlich, zumal die Zellanschnit-

te fast vollständig von solchen Körpern eingenommen werden. Die HGE vom vesiculären Typ ließen sich noch am ehesten mit Phagosomen in Verbindung bringen, weil ihr Vacuoleninhalt inhomogen ist und ihren wechselnd breiten und dichten Begrenzungssäumen ein Membrancharakter nicht definitiv abgesprochen werden kann. Ihre Lage in der homogenen Matrix der HGE jedoch kann als Hinweis darauf aufgefaßt werden, daß diese Vacuolen sekundär in den normalen HGE entstanden sind.

Im übrigen lagen in unserem Material, in Astrocyten, Zwischenzellen, etc. Cytosomen vor, die von einer Membran umgeben sind und neben homogenen Bezirken Strukturen wie Membranen, granuläres Material etc. enthalten.

Die Makrophagen unseres Falles zeigten in ihren Phagocytosevacuolen neben homogenen Bezirken ebenfalls verschiedenartiges Material, so daß sie hier aus der Diskussion als mögliche HGE-haltige Zellen ausscheiden, zumal sich bei ihnen auch regelmäßig Kernanschnitte finden.

Lipofuscingranula, die von verschiedenen Autoren als Endstadien aktiver Lysosomen aufgefaßt werden (MALKOFF and STREHLER, 1963; FAWCETT, 1966), können aufgrund der gleichen Überlegungen bei unseren HGE ebensowenig vorliegen. Außerdem findet man in Lipofuscingranula verschiedenartigste Strukturen wie zum Beispiel Myelinfiguren und mit einer Periode von etwa 7 nm parallel angeordnete Bänderformationen (SAMORAJSKI et al., 1965).

Frisch phagocytierte Erythrocyten und abgerundete Erythrocytenbruchstücke, deren Abbau noch nicht begonnen hat, gehören schon deshalb in den Kreis der Überlegungen, weil es sich bei unserem Material um das Recidivpräparat eines Gefäßtumors handelt, das heißt, daß Erythrocytenabbauvorgänge sicher im Anschluß an die erste Operation stattgefunden haben müssen. Solche Erythrocytenbruchstücke sind zwar der Matrix der Einschlüsse in Dichte und Struktur sehr ähnlich, aber ebenfalls membranumgeben (HAGER, 1960, 1962). Nach Beginn des Desintegration verlieren diese Phagosomen jede

Ähnlichkeit mit den fraglichen Einschlüssen, und auch die Siderosomen, die Endstadien des Erythrocytenabbaus, sind membranbegrenzt und zeigen in ihrem Inneren die wegen ihres Gehaltes an Eisen sehr elektronendichten Ferritingranula (FARRANT, 1954; RICHTER, 1957, 1958; BLINZINGER, 1968).

7.1.3 Fettröpfchen

haben keine Membran und zeigen, je nach der chemischen Zusammensetzung des Lipids, verschieden starke Osmiophilie, ohne daß man jedoch von der Dichte auf die Substanz schließen könnte (FAWCETT, 1966). Falls die HGE Lipide beherbergen, handelt es sich wohl kaum um die bei den Abbauvorgängen im Gehirn üblicherweise vorkommenden Substanzen. Diese zeigen nämlich, auch in den Mikrogliazellen etc. des vorliegenden Falles, im elektronenmikroskopischen Bild typische Präparationsartefakte. Die Tröpfchen können völlig herausgelöst sein, einzelne leere Vacuolen im Inneren aufweisen, oder es können unregelmäßige "tintenklecksartige" Figuren entstehen. Auch stellen sich die Fettröpfchen gegenüber den fraglichen Einschlüssen zum Teil deutlich dichter dar. In unseren einschlußhaltigen Fortsatzanschnitten traten sie jedoch nie gemeinsam mit den HGE auf, wenn man von einzelnen Einschlüssen in einer offensichtlich anderen Zellart absieht. (Abb. 4) Dieses Phänomen soll weiter unten diskutiert werden.

Im übrigen konnte auch in den Zellanschnitten mit relativ vitalem Cytoplasma keine Anlagerung von Mitochondrien an die HGE beobachtet werden, wie sie bei Fettröpfchen auftreten kann (FAWCETT, 1966; SCHLOTE, 1967; NAKAMURA and TIGGES, 1970). Wenn Lipide in den fraglichen Granula vorhanden sind, bilden sie wohl nicht die einzige Komponente des Einschlußinhaltes, weil dieser, im Gegensatz zu den völlig negativen Fettvacuolen mit erhaltenem Inhalt, PAS-positiv reagiert.

7.1.4 Cytoplasmakörper bei Stapelungsdystrophien

Bei den Stapelungsdystrophien (LETTERER) im Zentralnervensystem tritt eine Reihe von cytoplasmatischen, nicht von Lysosomen ableitbaren (SCHNECK and LEESTMA, 1966) Körpern auf. Als Beispiele seien genannt membranöse Cytoplasmakörper (TERRY and WEISS, 1963; GONATAS and GONATAS, 1965; TERRY, 1970) bei der infantilen amaurotischen Idiotie (Tay-Sachssche Erkrankung), multivesiculäre Körper und curvilineare Membrankörper (DUFFY et al., 1968; ZEMAN et al., 1970) bei der juvenilen amaurotischen Idiotie (neuronale Ceroid-Lipofuscinose), sogenannte Globoidkörper (globoid bodies) (AUSTIN and LEHFELDT, 1965; PEIFFER, 1968) bei der KRABBEschen Leucodystrophie und sogenannte "Zebrakörper", beziehungsweise "Schaschlikkörper" (ALEU et al., 1965; UCHIMURA et al., 1965) beim Gargoylismus (PFAUNDLER-HURLERsche Erkrankung). Alle diese Gebilde sind wegen ihrer lamellären Strukturen nicht mit unseren diskutierten cytoplasmatischen Einschlüssen zu verwechseln.

7.1.5 ROSENTHALsche "Fasern"

waren bei unserem Fall in wenigen Exemplaren zu finden. SCHLOTE, 1964b; 1966a, 1966b) gibt an, daß sie im Rahmen ventrikelferner Reparationsgliosen auch in Cystenwänden von Haemangioblastomen vorkommen können und zwar ausschließlich in Spongioblasten. Diese Gebilde zeigen eine homogene Struktur, die jedoch im Vergleich zu den HGE geringgradig gekörnelt erscheint. Der Rand der Ablagerungen ist völlig unregelmäßig gestaltet, während die HGE immer glattrandig und rundlich imponieren. Während die Gliafilamentzüge, die auf ROSENTHALsche "Fasern" zulaufen, weder umbiegen, noch ihre geordnete Formation aufgeben, bilden die Cytofilamente der HGE-haltigen Zellen in der Nähe der Einschlüsse ein ungeord-

netes Gefüge. Außerdem finden sich keinerlei Hinweise auf Übergangsformen zwischen diesen beiden verschiedenartigen membranlosen Körpern, die beide in kernfernen Zellfortsätzen angetroffen werden.

7.1.6 Melaningranula

Schon wegen der histologischen Diagnose, die den Tumor mit den Leptomeningen in Beziehung brachte, muß auch an Melaninpigment gedacht werden.
Obwohl reife Malaningranula keine lamelläre Binnenstruktur und keine umgebende Membran wie die unreifen Melanin einlagernden Melanosomen mehr besitzen (FAWCETT, 1966), kann es sich bei unseren HGE wegen der erheblich geringeren Elektronendichte nicht um Melaningranula handeln.

7.1.7 RUSSELsche Körperchen

könnten wegen ihrer amorphen (WELLENSIEK, 1957; HAGER, 1968a) PAS-positiven (BESSIS, 1961) Binnenstruktur mit den HGE in Beziehung gebracht werden. Sie kommen jedoch wegen der stets vorhandenen umgebenden Membran und der charakteristischen Morphologie der sie beherbergenden Plasmazellen (BRAUNSTEINER et al., 1953) wie zum Beispiel dem stark entwickelten endoplasmatischen Reticulum und den Golgizonen nicht in Betracht. Im übrigen wäre es unerklärlich, warum bei diesen Zellen keine Kernanschnitte vorliegen sollten.

7.1.8 Schleim

Schleimtröpfchen als Sekretgranula, zum Beispiel in den Becherzellen des Gastrointestinaltraktes, zeigen elektronenoptisch geringe Dichte und eine homogene bis feinstgranuläre Struktur (PALEY, 1958; SEDAR, 1964). Hierin gleichen sie durchaus der Matrix der diskutierten HGE. Letztere können aber kaum Schleimgranula aktiv sezernierender Zellen sein. Zwar zeigen diese Granula kurz vor dem Verlassen der Zelle keine oder nur undeutliche Membranen, doch besitzen die Zellen ein vitales Cytoplasma mit ausgeprägten Golgizonen in Kernnähe (PALEY, 1958; SEDAR, 1964). Hingegen erscheint eine schleimige Degeneration der HGE-haltigen Zellfortsätze möglich.
Bei der Lichtmikroskopie der Semidünnschnitte weist die Anfärbung der granulierten Zellanschnitte mit Alzian-Grün saure Mucopolysaccharide nach (ROMEIS, 1968). Die Mastzellgranula erscheinen infolge der Anfärbung mit den anderen Farbstoffen (SELYE, 1965) der benutzten Tetrachromfärbung violett bis rot-braun. Durch die schwach positive PAS-Reaktion und die blaue Anfärbung bei der Färbung nach GIEMSA unterscheiden sich die fraglichen Einschlüsse ebenfalls von den Mastzellgranula. Diese Befunde lassen die Vermutung, daß in den ersteren Mucoproteine vorliegen, nicht ausgeschlossen erscheinen (PALEY, 1958; ROMEIS, 1968). Da die Mucicarminfärbung keine Ergebnisse brachte und ein kombinierter histochemisch-elektronenmikroskopischer Nachweis von Schleimsubstanzen (ENEMOTO and SCOTT, 1971) bei unserem mit Osmium und Blei vorbehandelten Material nicht mehr möglich war, können wir keine weiteren Aussagen darüber machen, ob es sich bei den Einschlüssen chemisch um Schleimsubstanzen handelt.

Die sonstigen in den verschiedenen Drüsengeweben des Organismus vorkommenden Sekretgranula brauchen hier wegen der

Lage des vorliegenden Haemangioblastoms im ZNS nicht einzeln erörtert zu werden, auch nicht in den Fällen, bei denen sich die die Granula stets umgebenden Membranen (PALEY, 1958) im Elektronenmikroskop wegen derselben Elektronendichte von Membranmaterial und Granuluminhalt nicht ohne weiteres auflösen lassen, wie das etwa bei den Zymogengranula des exogenen Pankreasgewebes der Fall sein kann (HERMAN et al., 1964; FAWCETT, 1966). Einen terratomatösen Einschlag kann man für das vorliegende Haemangioblastom mit Sicherheit ablehnen, weil zu einer solchen Annahme mehr als nur ein diffus im Tumorgrenzbereich des Kleinhirns vorkommender Zelltyp gefordert werden muß.

7.2 CYTOGENETISCHE ABGRENZUNG

Für die Diskussion der Cytogenese der die HGE enthaltenden Zellen verbleiben infolge der Lokalisation und der oben durchgeführten Einschränkungen folgende Zellen: Mastzellen, Nervenzellen, Neuroglia: Oligodendroglia, Astroglia.

7.2.1 Mastzellen

sind im Tumorgewebe und in der Mischzone von Tumor und Neuropil reichlich vorhanden. Sie kommen zwar normalerweise im menschlichen zentralnervösen Gewebe nicht vor (SELYE, 1965), finden sich aber ubiquitär im lockeren Bindegewebe, besonders paravasal (SELYE, 1965; FASSKE und THEMANN, 1969). Außerdem werden sie im begleitenden Bindegewebe von gutartigen (GUSEK, 1962) und bösartigen Tumoren beschrieben (CAWLEY and HOCH-LIGETI, 1961; GUSEK, 1962; BLOOM, 1965; KOVACS und SOMOGYI, 1971). Ihre Fähigkeit, lange Fortsätze zu bilden (BLOOM, 1965; DOBBINS et al., 1969) und der Umstand, daß ihre Granula den Zelleinschlüssen der diskutier-

ten Zellen in Größe und Packungsdichte im Cytoplasma nahestehen, lassen an eine cytogenetische Verwandschaft beider Zellen denken.
Die fraglichen einschlußhaltigen Zellen sind weder mit unseren, noch mit den in der Literatur beschriebenen vitalen Fortsätzen aktiver Bindegewebszellen (STOECKENIUS, 1956; BLOOM, 1963, 1965; COMBS, 1966; DOBBINS et al., 1969) zu verwechseln (Abb. 5). Diese zeigen im Gegensatz zu den HGE-haltigen Zellfortsätzen keinen engen Kontakt mit den cytoplasmatischen Membranen faserreicher Gliafortsätze, sondern eine pseudopodienreiche freie Oberfläche. Die Mastzellfortsätze, deren Abgang vom Perikaryon sich einige Male darstellte, glichen plumpen Verlagerungen des Cytoplasma und zeigten eher noch längere Pseudopodien als die Perikarya, was allerdings durch eine schräge Schnittlage betont werden kann. Ihr Cytoplasma erschien immer organellenreich vital.

Vor allem aber ist die Granulamatrix der Mastzellen charakteristisch strukturiert (HIBBS et al., 1960; FLOOD and KRUGER, 1970). Lamellensysteme der beschriebenen Art, "Fingerprint"-figuren etc. finden sich nur in eindeutig als aktive Mastzellen identifizierbaren Anschnitten.
GUSEK (1960, 1962) beschreibt unter anderen Mastzellen des Menschen solche aus dem Stroma gut- und bösartiger Tumoren mit Granula, die unseren HGE nahekommen. Die Granula besaßen, wenn auch nicht in allen Fällen, eine homogene bis feinstgranuläre, optisch mäßig dichte Matrix und zarte, die Granula ganz oder partiell umgebende Membranen. Es wurden daneben aber immer auch Binnenstrukturen, zum Beispiel im Sinne der "Fingerprints", die an der Granulumoberfläche entlangzogen, beschrieben. Die Mastzellen zeigten ein geschädigtes Cytoplasma, Kerne waren vorhanden. Wir würden diese Granulaform mit den homogeneren großen Granula unserer Mastzellen vergleichen und von den HGE unterscheiden.
Nach SMITH (1963) bieten sich für die Strukturveränderungen von Mastzellengranula einmal Präparationsartefakte, zum an-

deren veränderte Reifungsstufen bzw. Funktionszustände an. Schäden an den Mastzellen durch die Präparation erklären die HGE wegen der optimal erhaltenen Mastzellen in ihrer unmittelbaren Nachbarschaft nicht (Abb. 5).
Die Reifungstheorien der Mastzellen bringen die frühen, homogenen Granulavorstufen mit Golgizonen (COMBS, 1966) oder Mitochondrien (GUSEK, 1962) in Zusammenhang. Dies deckt sich nicht mit den Befunden bei den HGE-haltigen Zellen. Deshalb können die Befunde von COMBS und Mitarbeitern (1965), bei denen die Granulierungen junger Mastzellen vorwiegend mit Alzianblau, die der reiferen mit Safranin reagierten, nicht als Hinweis dafür aufgefaßt werden, daß in unseren mit Alziangrün reagierenden granulierten kernlosen Zellanschnitten unreife Mastzellgranula vorlägen. Als reifere Mastzellgranula werden strukturreiche oder stark osmiophile, homogene Granula angesprochen (BLOOM, 1965; COMBS, 1966; FUJITA et al., 1969), das heißt Formen, wie wir sie auch in unseren Mastzellen, im Unterschied zu den HGE-haltigen Zellen, antreffen. Diese Unterschiede werden durch unsere lichtoptischen Befunde bestätigt.
Auch die Entladung der Granula (SMITH, 1963; FASSKE und THEMANN, 1969; MANN, 1969) zeigt andere Bilder, bei denen nämlich die Membranen der Granula deutlicher hervortreten. Der Untergang von Mastzellen in vivo durch Bienengift (FASSKE und THEMANN, 1969) zeigt ebenfalls Granulumveränderungen, die von unseren Beobachtungen gänzlich verschieden sind.
Eine andere Hypothese ließe die fraglichen HGE-haltigen Zellen als Mastzellen auffassen, die im Zusammenhang mit dem Turmorwachstum gegen das Neuropil hin wanderten, dann von einem Gliafilz eingemauert wurden und unter Verlust ihres Kernes degenerierten. Bei dem Tumorrecidiv wäre das Gebiet erneut von Mastzellen durchwandert worden, was das Vorliegen der dargestellten vitalen Mastzellen erklären könnte. Für eine solche Hypothese lassen sich jedoch keine

Beweise liefern. Zudem erscheint es sehr unwahrscheinlich, daß eine Zelle noch eine intakte Zellmembran, Mitochondrien und Reste des endoplasmatischen Reticulum aufweist, wenn sie keinen Kern mehr besitzt.
Weiter könnte es sich um degenerierte Fortsätze ansonsten vitaler Mastzellperikarya handeln. Hiergegen spricht der Befund, daß alle sicher den Mastzellen zugehörigen Fortsätze Pseudopodien ausgebildet haben, während die HGE-haltigen Anschnitte immer einen engen Kontakt zu reaktiven fibillären Astrocytenfortsätzen besitzen.

7.2.2 Neuriten und Dendriten

finden sich in der Gliose kaum. Ihre Differenzierung von Astrogliafortsätzen bleibt aber ohne die zugehörigen Perikarya schwierig (LUSE, 1968; LINDNER und LEONHARDT, 1968). In der Regel sind Mikrotubuli und Mitochondrien zu erkennen (WEINDL et al., 1968; LUSE, 1968). Das gilt besonders für in Glutaraldehyd fixiertes Material (HAGER, 1968a), wie es bei uns vorliegt. Die fraglichen Zellanschnitte ließen Mikrotubuli vereinzelt erkennen. Die für neuronale Fortsätze typischen Synapsen (LINDNER und LEONHARDT, 1968; LUSE, 1968) fanden sich hingegen nie. Da die einschlußhaltigen Fortsätze, die sich im festgefügten Neuropil befinden, keine der bekannten Bilder geschädigter Ganglienzellfortsätze zeigen (HAGER, 1968a); SCHLOTE, 1964a), können wir mit hinreichender Sicherheit ihre neurale Natur ablehnen.

7.2.3 Oligodendrocyten

zeigen in den elektronenmikroskopischen Bildern regelmäßig Kerne (MUGNAINI and WALBERG, 1964; FARQUHAR and HARTMANN, 1957), in alteriertem Gewebe zudem häufig Mitosen (HAGER,

1968c; FUENTES et MARTY, 1970). Die Fortsätze sind kurz (FARQUHAR and HARTMANN, 1957; SPACEK, 1971). Als Charakteristikum finden sich im Cytoplasma neben stark entwickeltem, rauhen endoplasmatischen Reticulum Mikrotubuli (MUGNAINI and WALBERG, 1964; MORI and LEBLOND, 1970). Abgesehen von der akuten Schwellung beschrieben HIRANO und Mitarbeiter (1965) chronische "Ballonierungen" der Oligodendrocyten nach Implantation von Kryptokokken-Polysacchariden in die Großhirne von Ratten. Das aufgenommene Material befand sich teilweise in Vacuolen des endoplasmatischen Reticulum, lag aber größtenteils ohne Membranen frei "traubenförmig" im Cytoplasma beieinander. Die Befunde blieben über Monate ohne Strukturschädigungen der Zelle erhalten. Sie wurden von HAGER (1968c) mit dem lichtmikroskopischen Begriff der "mucoiden Degeneration der Oligodendroglia" in Beziehung gebracht. Zwar flossen die "Vacuolen" zu plumpen Gebilden zusammen, doch gleichen die Bilder in Dichte und Homogenität unseren Befunden ungemein. Entsprechend den oben aufgezeigten cytologischen Kriterien kann es sich bei unserem Fall allerdings nicht um Oligodendroglia handeln.

7.2.4 Astrocytenfortsätze

Astrocyten lassen in alten Glianarben ihre Perikarya kaum erkennen (HAGER, 1968b). Innerhalb des festgefügten Neuropils in vom freien Extrazellulärraum entfernten Bezirken haben die HGE-haltigen Zellanschnitte die für Astrocytenfortsätze typische unregelmäßige Form (MUGNAINI and WALBERG, 1964; WEINDL et al., 1968). Für ihre Zugehörigkeit zu den Astrocyten spricht auch der in allen Fällen vorhandene enge Kontakt zu faserreichen Astrocytenfortsätzen, der auch bei allen abgerundeten Zellen im Bereich des freien Extrazellulärraumes an Teilen der Circumferenz nachgewiesen werden kann.
Ohne hier auf geschädigte Zellen einzugehen, lassen sich

innerhalb der HGE-haltigen Anschnitte die mehr organellenreichen, insbesondere kleine Mitochondrien und Schläuche des endoplasmatischen Reticulum enthaltenden Zellen den faserreichen Elementen gegenüberstellen. Diese Gruppen entsprechen der Einteilung in protoplasmatische und filamentäre Astrocyten in der Literatur (MAXWELL and KRUGER, 1965; HAGER, 1968a; WEINDL et al., 1968). Die gliafilamentreichen und volumenvermehrten Astrocytenfortsätze überwiegen gegenüber den protoplasmatischen bei weitem, wie es für Fasergliosen kennzeichnend ist (HAGER und BLINZINGER, 1965). Zwischen den beiden Typen bestehen fließende Übergänge.
Die bisweilen, aber stets in viel geringerer Menge als die Gliafilamente, anzutreffenden Mikrotubuli können mit der Fixierung in Glutaraldehyd (HAGER, 1968a) bzw. mit der Bildung neuer Filamente in Beziehung gebracht werden (VAUGHN and PEASE, 1970). Im ersten Falle handelt es sich um ein Artefakt, im andern Falle um eine besondere Eiweißstruktur.
Das in den Fortsätzen in wechselnder Menge anzutreffende Glycogen kennzeichnet diese geradezu als Fortsätze reaktiv veränderter Astrocyten in der Umgebung von Tumoren und posttraumatischen Narben (BUNGE et al., 1961; OKSCHE, 1961; MUGNAINI and WALBERG, 1964; HAGER et al., 1967; WEINDL et al., 1968). Glycogen kann in der Nachbarschaft von Tumoren auch in Dendriten, jedoch in viel geringerer Menge vorkommen (KOIZUMI et al., 1970). Die PAS-positive Reaktion der Zellen ist wohl nicht auf Glycogen zu beziehen, weil sie die lichtmikroskopisch erkennbaren Granulierungen betraf.

Das Auftreten einiger HGE in Spongioblastenfortsätzen, die durch ROSENTHALsche "Fasern" gekennzeichnet sind, bietet ein weiteres Argument für das Vorliegen der Einschlüsse in astrocytären Fortsätzen im weiteren Sinne.

In der Literatur werden in reaktiv veränderten Astrocyten häufig homogene, gleichmäßig dichte, bei Fixierung in Glu-

taraldehyd runde Zelleinschlüsse beschrieben. Ihre Natur ist ungeklärt. Teilweise wird eine Begrenzung durch Membranen angegeben (SCHLOTE, 1964; AHMED, 1970; VAUGHN and PEASE, 1970), teilweise fehlt diese (MAXWELL and KRUGER, 1970). LUSE (1958), STEINWALL and KLATZO (1966), BLINZINGER (1968), AHMED (1970) und andere Autoren schreiben den Astrocyten eine Phagocytosefähigkeit zu. SCHLOTE (1967) nimmt eine Infiltration des Neuropils durch Plasmabestandteile an, wenn dieses z.B. nach experimentellen Traumen mit Plasma in Kontakt kommt. Andere Autoren stellen die Phagocytosefähigkeit der Astrocyten in Frage oder schildern sie als unbeträchtlich (z.B. HAGER, 1968a, 1968c; MAXWELL and KRUGER, 1965). Letztere Annahme scheint bei unseren Befunden eher zuzutreffen, auch wenn gelegentlich membranbegrenzte Cytosomen in Astrogliafortsätzen angetroffen wurden. Jedenfalls finden sich keine morphologischen Hinweise für eine Stoffaufnahme durch Astrocyten wie etwa Pinocytosebläschen.

Wir vermuten, daß das Material zur Bildung der HGE aus dem Cytoplasma der Astrocytenfortsätze selbst stammt und zwar im Sinne eines degenerativen Vorganges. Die Aussagen, die wir über die Chemie der in den HGE vorliegenden Substanzen machen können, schließen lediglich die bei traumatischen oder ähnlichen Schädigungen anfallenden Lipide, also in erster Linie Markscheidenlipide, aus. Andere Lipide, Polysaccharide und Proteine können vorhanden sein. Die genauere chemische Differenzierung ist bei dem vorbehandelten Material nicht weiter durchführbar. Eine Benennung des vermuteten progredient degenerativen Vorganges als "Lipidphanerose" oder "mucoide Degeneration" ist daher nicht möglich.
Das Auffallendste bei dem geschilderten Fall ist, daß die Einschlüsse in einem Zellfortsatz dichtgedrängt auftraten, während andere astrocytäre Fortsätze, die mit einer solchen Zelle in engem Kontakt stehen, keine HGE beherbergen. Wenn sich auch vermuten läßt, daß die Schädigung im Bereich der Perikarya zu suchen ist, kann doch keine pathogenetische Erklärung für diese progressiv regressiven Veränderungen an-

gegeben werden.
Kerne in HGE-haltigen Zellanschnitten beobachteten wir nur zweimal. Eine Zelle war eine Endothelzelle mit exzentrisch gelagertem Kern. Die andere Zelle fand sich in der Mischzone von Tumor- und Hirngewebe. Der Kern war ebenfalls exzentrisch am Rande des organellenreichen Cytoplasmas gelagert, in dem sich neben den besonders großen HGE mehrere typische "tintenklecksartige" Fettvacuolen befanden. Es dürfte sich demnach um eine mesenchymale, phagocytosefähige Zelle handeln (Abb. 4).
Die Cytosomen, die sich mitunter in vereinzelten Exemplaren in verschiedenen nicht astrocytären Zellen, so zum Beispiel den Zwischenzellen der Gruppe 2 fanden, waren teilweise membranlos. Die Cytosomen mit deutlichen Membranen können eine granuläre oder feinlamelläre Binnenstruktur aufweisen. Man kann sich vorstellen, daß es sich um Phagocytosevacuolen handelt, in die strukturiertes Material, aber auch im Extrazellulärraum frei vorliegende HG"E" aufgenommen wurden. Diese Hypothese wäre besonders für Mikrogliazellen und Makrophagen zu diskutieren. Für die Cytoplasmakörper in den genannten Zellen, die eine Membran nicht sicher erkennen ließen, bleibt die Frage offen, ob die Zellen sie durch denselben degenerativen Vorgang wie die Astrocyten gebildet oder aus dem Extrazellulärraum aufgenommen haben.

8 ABBILDUNGEN

Abb 1 x 18 000

links: HGE-haltiger Zellanschnitt mit Mitochondrien und geblähtem e.R. inmitten faserreicher Astrocytenfortsätze;
rechts: Tumoranteile, durch Basalmembranen von der Gliose getrennt.

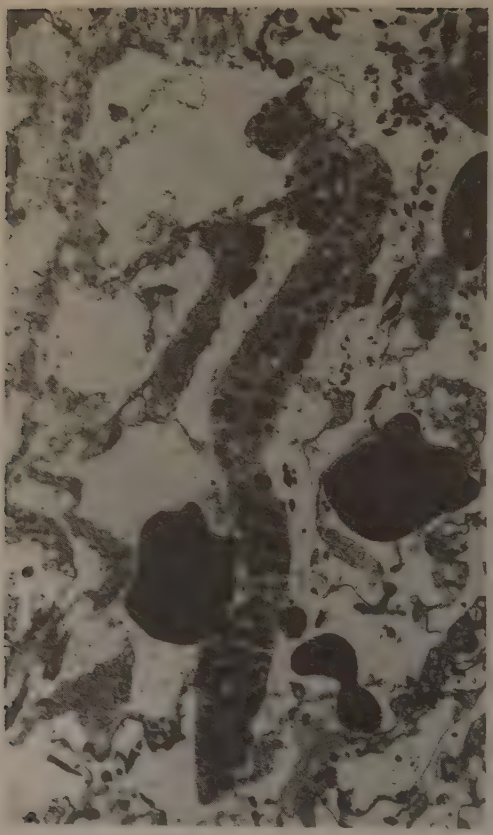

Abb 2 x 5 ooo

Längsschnitt durch einen HGE-haltigen Zellfortsatz mit langen Mitochondrien;
Im freien Extrazellulärraum finden sich locker gefügte faserreiche Astrogliafortsätze, kollagene Fasern, geronnenem Eiweiß ähnliches Material, freie HG"E" und Erythrocyten.

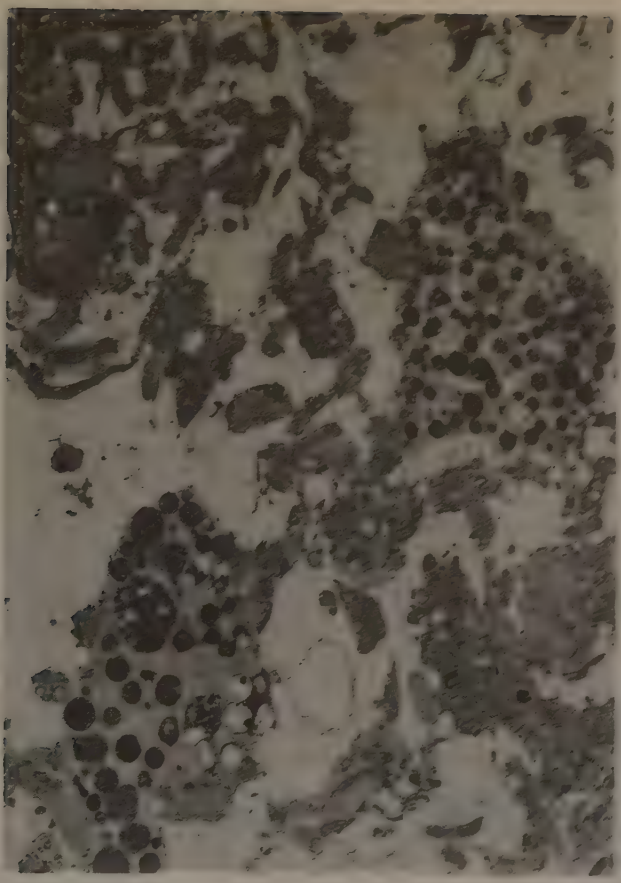

Abb 3.1 x 5 000

oben rechts: HGE-haltiger Zellanschnitt mit viel e.R. und wenig Cytofilamenten;
unten links: HGE-haltiger Zellfortsatz mit großen HGE, ausgeprägten, dichten Cytofilamentzügen und wenig e.R. Mitochondrien fehlen hier ganz.

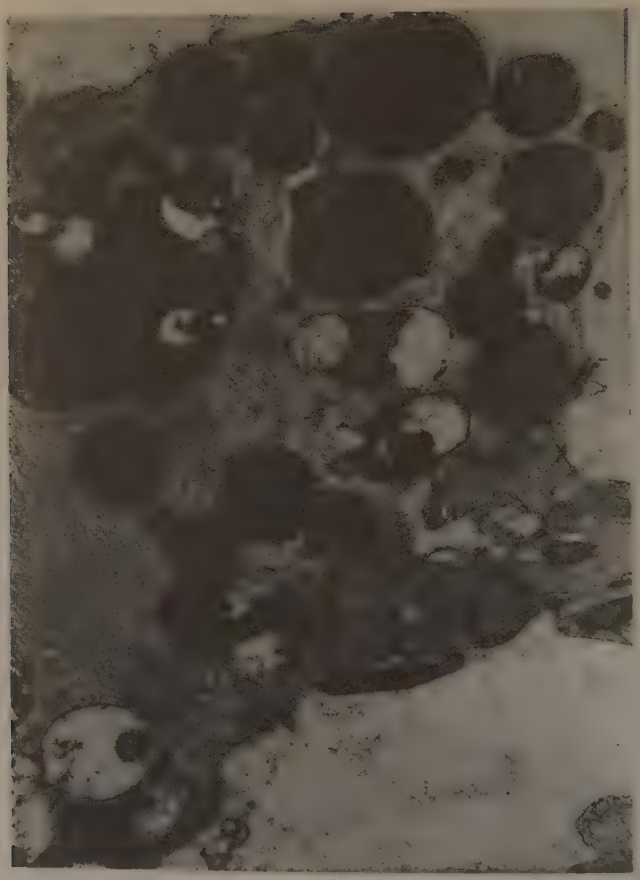

Abb 3.2 (Ausschnitt aus Abb 3.1) x 18 ooo

Die Ausrichtung der Cytofilamentzüge verliert sich zwischen den HGE. Es sind nur spärlich Anschnitte des e.R. vorhanden. Glycogen fehlt. Neben normalen HGE finden sich Einschlüsse vom vesiculären und vom Zwischentyp.

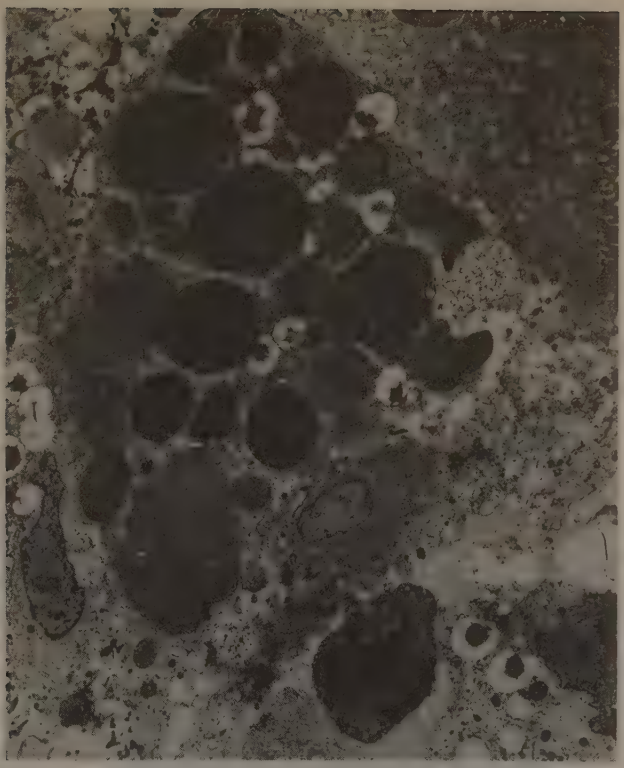

Abb 4 x 5 ooo

Eine der beiden HGE-haltigen Zellen mit Kern in der Grenzzone zwischen Tumorgewebe und Gliose; Mitte links: Zellkern mit unregelmäßigem Profil. Im organellenreichen Cytoplasma finden sich neben den besonders großen HGE mehrere Fettvakuolen.

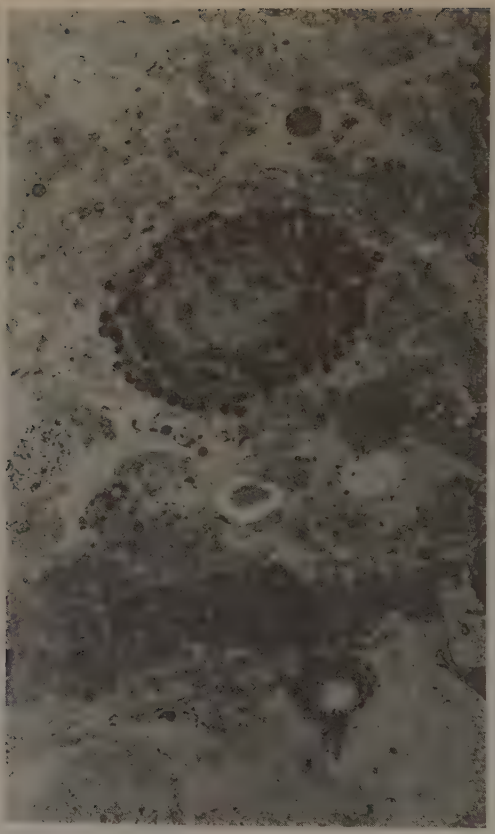

Abb 5 x 5 ooo

oben: Mastzelle mit Kern, elektronendichten sowie vereinzelt helleren Granula und pseudopodienreicher Oberfläche;
unten: HGE-haltiger Astrocytenfortsatz.

9 ZUSAMMENFASSUNG

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung eines anderweitig beschriebenen Haemangioblastoms des Kleinhirns (CERVOS-NAVARRO, 1971) fielen in der peritumoralen Fasergliose Zellen mit membranlosen, homogenen, glattrandig rundlichen bis groblappigen Einschlüssen (HGE) auf. Sie werden eingehend beschrieben und von Mastzellen, Neuriten und Dendriten und Oligodendrocyten differenziert und aufgrund ihrer unregelmäßigen länglichen Gestalt, ihrer Kernlosigkeit, ihres engen Kontaktes zu Astrogliafortsätzen, ihres Cytofilamentreichtums und ihres Glycogengehaltes als Astrocytenfortsätze identifiziert. Die HGE, die zusammen mit zwei selteneren, teilweise inhomogenen Varianten beschrieben werden, messen in ihrem längsten Durchmesser 0,1 µ - 1,5 µ, mit einem Mittelwert von 0,4 µ und liegen in unterschiedlich dichter Packung im Cytoplasma vor. Sie lassen sich nicht als Mitochondrien, Lysosomen oder verwandte Gebilde, Fettröpfchen, Cytoplasmakörper bei Stapelungsdystrophien, ROSENTHALsche Fasern, Melaningranula, RUSSELsche Körperchen oder Schleimtröpfchen ansprechen. Auch wenn die an Semidünnschnitten durchgeführten Färbungen und histochemischen Reaktionen Lipide nicht ausschließen und das Vorhandensein von Mucoproteinen in den HGE vermuten lassen, kann der vermutete degenerative Vorgang nicht als "Lipidphanerose" oder "mucoide Degeneration" benannt werden. Weil außerdem die Frage offen bleibt, warum nur vereinzelte Astrocytenfortsätze betroffen sind, kann eine pathogenetische Erklärung für diese progressiv- regressiven Veränderungen nicht angegeben werden.

10 LITERATURNACHWEIS

AHMED, M.M.
A note on the neuroglia in normal and tricresylphosphate (TCP) poisoned hen
Acta anat., 77: 120-130 (1970)

ALEU, F.P.
TERRY, R.D.
ZELLWEGER, M.
Electron microscopy of two cerebral biopsies in gargoylism
J.Neuropath.exp.Neurol., 24: 302 (1965)

AUSTIN, J.H.
LEHFELDT, D.
Studies in globoid (Krabbe) leukodystrohy
J.Neuropath.exp.Neurol., 24: 265-289 (1965)

BAUDHUIN, P.
BEAUFAY, H.
DUVE, DE C.
Combined biochemical and morphological study of particulate fractions from rat liver
J.Cell Biol., 26: 219-243 (1965)

BESSIS, M.C.
Ultrastructure of lymphoid and plasma cells in relation to globulin and antibody formation
Lab.Invest., 10: 1040-1067 (1961)

BLINZINGER, K.
Das submikroskopische Bild der experimentellen Coli-Meningitis und seine durch Streptomycin bewirkte Abwandlung
in: Proceedings of the Vth International Congress of Neuropathology, F. LÜTHY and A.BISCHOFF (edrs.): 270-286 (1966)

BLINZINGER, K.
Elektronenmikroskopische Beobachtungen bei experimentell erzeugter Randzonensiderose des Kaninchengehirns
Acta Neuropath., Suppl.4: 146-157 (1968)

HAGER, H.
Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Feinstruktur ruhender und progressiver Mikrogliazellen im ZNS des Goldhamsters
Progr.Brain Res., 6: 99-111 (1964)

BLOOM, G.D.
Electron microscopy of neoplastic mast cells: a study of the mouse mastocytoma mast cell
Annals N.Y.Acad.Sci., 103: 53-86 (1963)

Structural and biochemical characteristics of mast cells
in: The inflammatory process, B.W. ZWEIFACH, L.GRANT, R.T.McCLUSKEY (edrs.): 335-388 (1965)
Academic Press, New York

BRAUNSTEINER, H.
FELLINGER, K.
PAKESCH, F.
Demonstration of a cytoplasmic structure in plasma cells
Blood, 8: 916-922 (1953)

BUNGE, M.B.
BUNGE, R.P.
RIS, H.
Ultrastructural study of remyelination in an experimental lesion in adult cat spinal cord
J.Biophys.Biochem.Cytol., 10: 67-94 (1961)

CAWLEY, E.P.
HOCH-LIGETI, C.
Association of tissue mast cells and skin tumors
A.M.A.Arch.Derm., 83: 92-96 (1961)

CERVOS-NAVARRO, J.
Elektronenmikroskopie der Hämangioblastome des ZNS und der angioblastischen Meningiome
Acta Neuropath., 19: 184-207 (1971)

COMBS, J.W.
Maturation of rat mast cells: an electron microscope study
J.Cell Biol., 31: 563-575 (1966)

LAGUNOFF, D.
BENDITT, E.P.
Differentiation and proliferation of embryonic mast cells of the rat
J.Cell Biol., 25: 577-592 (1965)

DOBBINS, W.O.
TOMASINI, J.T.
ROLLINS, E.L.
Electron and light microscopic identification of the mast cell of the gastrointestinal tract
Gastroenterology, 56: 268-279 (1969)

DUFFY, P.E.
KORNFELD, M.D.
SUZUKI, K.
Neurovisceral storage disease with curvilinear bodies
J.Neuropath.exp.Neurol., 27: 351 (1968)

DUVE, DE C.
The Lysosome
Sci.Am., 208: 64-72 (1963)

From cytases to lysosomes
Federation Proceedings, 23: 1045-1049 (1964)

ENEMOTO, S.
SCOTT, B.L.
Intracellular distribution of mucosubstances in the major sublingual gland of the rat
Anat.Rec., 169: 71-95 (1971)

ESCOLA, J.
HAGER, H.
Elektronenmikroskopische Beobachtungen über Einlagerungen in Plasmazellen bei durch Hitzekoagulation verursachten Nekrosen der Großhirnrinde
Naturwissenschaften, 49: 283-284 (1962)

FARRANT, I.L.
An electron microscopic study of ferritin
Biochem.biophysica acta, 13: 569 (1954)

FARQUHAR, M.G.
HARTMANN, J.F.
Neuroglial structure and relationships as revealed by electron microscopy
J.Neuropath.exp.Neurol., 16: 18-39 (1957)

FASSKE, E.
THEMANN, H.
Elektronenmikroskopische experimentelle Untersuchungen zur Entladung der Gewebsmastzellen
Virchows Arch.Abt.B Zellpath., 4: 126-136 (1969)

FAWCETT, D.W.
An atlas of fine structure: the cell, its organelles and inclusions (1966)
W.B.Saunders Company, Philadelphia

FLOOD, P.R.
KRUGER, P.G.
Fine structure of mast cells in the central nervous system of the hedgehog
Acta anat., 75: 443-452 (1970)

FUENTES, C.
MARTY, R.
Oligodendrocytose réactionelle au cours de la dégénérescence expérimentale du cortex cérébral
J.neurol.Sci., 10: 535-540 (1970)

FUJITA, H.
ASAGAMI, C.
MUROZUMI, S.
YAMAMOTO, K.
KINOSHITA, K.
Electron microscopic studies of mast cells of human fetal skins
J.Ultrastruct. Res. 28: 353-370 (1969)

GONATAS, N.K.
GONATAS, J.
Ultrastructural and biochemical observations on a case of systemic late infantile lipidosis and its relationship to Tay-Sachs disease and gargoylism
J.Neuropath.exp.Neurol., 24: 318-340 (1965)

GUŞEK, W.
Zur Ultrastruktur und Genese von Mastzellen und Mastzellengranula
Proceedings of the European Regional Conference on Electron Microscopy, 2: 912-916 (1960)

Submikroskopische Untersuchungen zur Feinstruktur aktiver Bindegewebszellen
Veröffentlichungen aus der morphologischen Pathologie, 64 (1962)
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

HAGER, H.
Elektronenmikroskopische Befunde zur Cytopathologie der Abbau- und Abräumvorgänge in experimentell erzeugten traumatischen Hirngewebsnekrosen
Naturwissenschaften, 18: 427-428 (1960)

HAGER, H. — Elektronenmikroskopische Befunde zur allgemeinen Zytopathologie des zentralnervösen Gewebes
in: IV. Internationaler Kongress für Neuropathologie, Vol 2: 85-95 (1962)
Georg Thieme Verlag, Stuttgart

--- — Allgemeine morphologische Pathologie des Nervengewebes
in: Handbuch der allgemeinen Pathologie, 3.Bd., 3.Teil, Die Organe II: 1-385 (1968 a)
Springer-Verlag, Berlin

--- — Electron microscopy of nervous tissue
in: Pathology of the nervous system, J.MINCKLER (ed.), Vol 1: 149-167 (1968 b)
McGraw-Hill, Inc., New York

--- — Pathologie der Makro- und Mikroglia im elektronenmikroskopischen Bild
Acta neuropath., Suppl.IV: 86-97 (1968 c)

--- BLINZINGER, K. — Über eigenartige Astrozytenfortsätze und intrazytoplasmatische Vesikelreihen
Z.Zellforsch., 65: 57-73 (1965)

--- LUH, S. RUSCAKOVA, D. RUSCAK, M. — Histochemische, elektronenmikroskopische und biochemische Untersuchungen über Glycogenanhäufungen in reaktiv veränderten Astrozyten der traumatisch lädierten Säugergroßhirnrinde
Z.Zellforsch., 83: 295-320 (1967)

HERMAN, L.
SATO, T.
FITZGERALD, P.J.
The Pancreas
in: Electron Microscopic Anatomy,
S.M.KURTZ (ed.): 59-96 (1964)
Academic Press, New York

HIBBS, R.G.
BURCH, G.E.
PHILLIPS, J.H.
Electron-microscopic observations
on the human mast cell
Am.Heart J., 60: 121-127 (1960)

HIRANO, A.
ZIMMERMANN, H.M.
LEVINE, S.
Fine structure of cerebral fluid accumulation; VI. Intracellular accumulation of fluid and cryptococcal polysaccharide in oligodendroglia
Arch.Neurol., 12: 189-196 (1965)

IGLESIAS, J.
persönliche Mitteilung

KOIZUMI, J.
SHIRAISHI, H.
MINEI, S.
Ultrastructural appearance of glycogen in neuron and astrocyte of the human cerebral cortex adjacent to brain tumors
J.Electron Microsc., 19: 355-361 (1970)

KOVACS, K.
SOMOGYI, A.
Mastzellen in den durch 7,12-Dimethylbenz(a)Anthrazen hervorgerufenen Milchdrüsentumoren bei Ratten
Zbl.allg.Path., 114: 69-74 (1971)

LINDNER, R.
LEONHARDT, H.
Cytosomen mit Zylindroiden und fünfschichtigen Membranen; Untersuchungen an den Nerven- und Gliazellen der Area postrema im Kaninchengehirn
Z.Zellforsch., 86: 453-474 (1968)

LUSE, S.A. Ultrastructure of reactive and neoplastic astrocytes
Lab.Invest., 7: 401-417 (1958)

--- The neuron
in: Pathology of the nervous system,
J.MINCKLER (ed.), Vol 1:553-585 (1968)
McGraw-Hill, Inc., New York

MACKEY, E.A.
SPIRO, D.
WIENER, J. A study of chromatolysis in dorsal root ganglia at the cellular level
J.Neuropath.exp.Neurol., 23: 508-526 (1964)

MALKOFF, D.B.
STREHLER, B.L. The ultrastructure of isolated and in situ human cardiac age pigment
J.Cell Biol., 16: 611-616 (1963)

MANN, P.R. An electron-microscope study of the degranulation of rat peritoneal mast cells brought about by four different agents
Br.J.Derm., 81: 926-936 (1969)

MATAKAS, F. Färbemethoden und histochemische Reaktionen an Kunststoffdünnschnitten für lichtmikroskopische Untersuchungen
Mikroskopie, 23: 337-344 (1968)

MAXWELL, D.S.
KRUGER, L. The fine structure of astrocytes in the cerebral cortex and their response to focal injury produced by heavy ionizing particles
J.Cell Biol., 25: 141-157 (1965)

MORI, S.
LEBLOND, C.P.
Electron microscopic identification of three classes of oligodendrocytes and a preliminary study of their proliferative activity in the corpus callosum of young rats
J.Comp.Neurol., 139: 1-29 (1970)

MUGNAINI, E.
WALBERG, F.
Ultrastructure of neuroglia
Ergebn.Anat.Entwick.-Gesch., 37: 194-236 (1964)

NAKAMURA, S.
TIGGES, J.
Lipid droplets in the lateral terminal nucleus of the accessory optic system in the galago (primates)
Z.Zellforsch., 106: 550-555 (1970)

NOVIKOFF, A.B.
Lysosomes and related particles
in: The Cell, J.BRACHET and A.E.MIRSKEY (edrs.), Vol 2: 423-488 (1961)
Academic Press, New York

ESSNER, E.
Cytolysomes and mitochondrial degeneration
J.Cell Biol., 15: 140-146 (1962)

OKSCHE, A.
Der histochemisch nachweisbare Glycogenaufbau und -abbau in den Astrocyten und Ependymzellen als Beispiel einer funktionsabhängigen Stoffwechselaktivität der Neuroglia
Z.Zellforsch., 54: 307-361 (1961)

PALEY, S.L.
The morphology of secretion
in: Frontiers in cytology, S.L.PALEY (ed.): 305-342 (1958)
Yale University Press, New Haven

PEIFFER, J. Gliazellen als Manifestationsorte von Stoffwechselkrankheiten
Acta Neuropath., Suppl.IV: 77-85 (1968)

PEARSE, A.G.E. Histochemistry theoretical and applied
(1968) J.&A. Churchill LTD, London

RICHTER, G.W. A study of hemosiderosis with the aid of electron microscopy
J.exp.Med., 106: 203-218 (1957)

--- Electron microscopy of hemosiderin: Presence of ferritin and occurrence of crystalline lattices in hemosiderin deposits
J.Biophys.Biochem.Cytol., 4: 55-58 (1958)

ROMEIS, B. Mikroskopische Technik
(1968) R.Oldenbourg Verlag, München

SAMORAJSKI, I.
ORDY, J.M.
KEEFE, J.R. The fine structure of lipofuscin age pigment in the nervous system of aged mice
J.Cell Biol., 26: 779-795 (1965)

SCHLOTE, W. Die läsionsbedingten primär-retrograden Veränderungen der Axone zentraler Nervenfasern im elektronenmikroskopischen Bild
Acta Neuropath., 4: 138-157 (1964 a)

--- Zur Ultrastruktur der sog. Rosenthalschen Fasern im Zentralnervensystem
Naturwissenschaften, 51: 165-166 (1964 b)

SCHLOTE, W. Rosenthalsche "Fasern" und Spongioblasten im ZNS; I. Vorkommen in ventrikelfernen Reparationsgliosen; Darstellbarkeit der "Fasern" im Zellbild
Beitr.path.Anat., 133 : 225-248 (1966 a)

--- Rosenthalsche Fasern und Spongioblasten im Zentralnervensystem; II. Elektronenmikroskopische Untersuchungen. Bedeutung der Rosenthalschen "Fasern"
Beitr.path.Anat., 133: 461-480 (1966 b)

--- Plasmatische Infiltration der Extra- und Intracellularräume der grauen Substanz (Plasmatische Infiltrationsnekrose) nach experimentellem Trauma
Acta Neuropath., 8: 171-184 (1967)

SCHNECK, S.A.
LEESTMA, J. The central nervous system
in: Ultrastructural aspects of disease, D. WEST KING (ed.): 250-255 (1966)
Hoeber Medical Division, New York

SEDAR, A.W. Stomach and intestinal mucosa
in: Electron microscopic anatomy, S.M.KURTZ (ed.): 123-148 (1964)
Academic Press, New York

SELYE, H. The mast cell
(1965) Butterworth, Inc., Washington

SMITH, D.E. Electron microscopy of normal mast cells under various experimental conditions
Ann.N.Y.Acad.Sci., 103: 40-852 (1963)

SPACEK, J. Three-dimensional reconstruction of astroglia and oligodendroglia cells Z.Zellforsch., 112: 430-442 (1971)

STEINWALL, O.
KLATZO, J. Selective vulnerability of the blood brain barrier in chemically induced lesions J.Neuropath.exp.Neurol., 25: 542 (1966)

STOECKENIUS, W. Zur Feinstruktur der Granula menschlicher Gewebsmastzellen Exp.Cell Res., 11: 656-658 (1956)

SUZUKI, K.
RAPIN, E. Giant neuronal mitochondria in an infant with microcephaly and seizure disorder Arch.Neurol., 20: 62-72 (1969)

TERRY, R.D. Electron microscopy of selcted neurolipidoses in: Handbook of clinical neurology, P.J.VINKEN and G.W.BRUYN (edrs.), Vol 10: 362-384 (1970) North-Holland Publishing Company, Amsterdam

---
WEISS, M. Studies on Tay-Sachs disease; II. Ultrastructure of the cerebrum J.Neuropath.exp.Neurol., 22: 18-55 (1963)

UCHMURA, Y.
TOSHIMA, Y.
SEKIYA, T. Zur elektronenmikroskopischen Pathomorphologie der Hirnrinde bei Gargoylismus Acta Neuropath., 4: 476-490 (1965)

VAUGHN, J.E.
PEASE, D.C.
Electron microscopic studies of Wallerian degeneration in rat optic nerves
J.Comp.Neurol., 140: 207-226 (1970)

WEINDL, A.
SCHWINK, A.
WETZSTEIN, R.
Der Feinbau des Gefäßorgans der Lamina terminalis beim Kaninchen; II. Das neuronale und gliale Gewebe
Z.Zellforsch., 85: 552-600 (1968)

WELLENSIEK, H.J.
Zur submikroskopischen Morphologie von Plasmazellen mit Russelschen Körperchen und Einweißkristallen
Beitr.path.Anat., 118: 173-202 (1957)

ZEMAN, W.
DONAHUE, S.
DYKEN, P.
GREEN, J.
The neuronal ceroid-lipofuscinosis (Batten-Vogt syndrome)
in: Handbook of clinical neurology, P.J.VINKEN and G.W.BRUYN (edrs.), Vol 10: 588-679 (1970)
North-Holland Publishing Company, Amsterdam

Herrn Prof. Dr.med. J. Cervós-Navarro
möchte ich für die Überlassung des Themas und die unermüdliche Förderung bei der Erstellung der Arbeit aufrichtig danken.

Desgleichen gilt mein Dank den wissenschaftlichen und technischen Assistenten für ihre vielfältige Hilfe und Diskussionsbereitschaft.

LEBENSLAUF

28.II. 1946	geboren in Richrath (Rheinland) als Sohn des Industriekaufmanns Oswald v.Frankenberg und seiner Ehefrau Renate v.Frankenberg, geb. Lauterjung
IV. 1952 - IV. 1956	Volksschule in Langenfeld-Wiescheid
IV. 1956 - Abitur 1965	Gymnasium Schwertstraße, Solingen, naturwissenschaftlicher Zweig
SS 1965 - SS 1968	Medizinstudium an der Universität des Saarlandes, Homburg und Saarbrücken
IV. 1966	naturwissenschaftliche Vorprüfung
IV. 1968	ärztliche Vorprüfung
WS 68/69 - SS 1969	Fortsetzung des Studiums an der Ruhr-Universität Bochum, Klinikum Essen
WS 69/70 - WS 70/71	Fortsetzung des Studiums an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn
15.VII. 1971	Staatsexamen vor dem Prüfungsausschuß für die ärztliche Prüfung, Bonn
IX. 1971 - I. 1972	Med.-Ass. am Institut für Neuropathologie, Klinikum Steglitz der FU Berlin
II. 1972 - V. 1972	Med.-Ass. an der I. Medizinischen Abteilung der Klinischen Anstalten der RWTH Aachen